



中国猪伪狂犬病的流行及防控

郭镇洋, 田志军, 彭金美*

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所, 动物疫病防控全国重点实验室, 哈尔滨 150069

* 联系人, E-mail: pjm7614@163.com

收稿日期: 2023-08-23; 接受日期: 2023-10-25; 网络版发表日期: 2023-12-11

黑龙江省重大项目(2022ZX02B13)资助

摘要 猪伪狂犬病是危害养猪业的一个重大传染病. 1979年中国引入Bartha K61株活疫苗, 使猪伪狂犬病得到了有效控制. 但是当2011年许多免疫猪场暴发猪伪狂犬病疫情时, 发现现有疫苗免疫后不能完全抵抗新流行毒株的攻击, 进一步研究发现, 新流行毒株在抗原性和毒力上发生了变异. 因此, 中国科研人员持续对伪狂犬病毒(pseudorabies virus, PRV)变异株进行了流行病学监测, 至今已有29个省份出现PRV变异株. 序列分析显示, PRV变异株在亲缘关系上与基因 I 型毒株(国外)以及中国早期经典毒株均相距较远, 而且出现了特征性氨基酸变异. 目前, 中国已开展了针对PRV变异株的疫苗研制及诊断试剂的开发, 多家单位研制的灭活疫苗和诊断试剂盒获得了新兽药证书, 基因缺失弱毒活疫苗的研制也取得了较大的进展. 这些研究为猪伪狂犬病的防控和净化提供了理论和技术支撑.

关键词 猪伪狂犬病, 变异毒株, 流行, 诊断, 疫苗

伪狂犬病毒(pseudorabies virus, PRV)是疱疹病毒科 α 疱疹病毒亚科水痘病毒属的成员, 与其同属的还有 I 型牛疱疹病毒(bovine herpesvirus-1, BHV-1)、马疱疹病毒(equine herpes virus, EHV)以及水痘带状疱疹病毒(vesicular stomatitis virus, VSV).

PRV可引起各种家畜和野生动物出现发热、奇痒(猪除外)及脑脊髓炎等临床症状. 猪(包括野猪)既是 PRV 的原发感染宿主又是病毒的长期贮存和排出者, 在该病的传播上发挥着甚为重要的作用, 且仅在猪中可观察到潜伏感染. 病毒经口鼻感染后, 在上呼吸道复制, 然后攻击感觉神经末梢, 穿过突触感染神经元, 侵入神经系统^[1]. 不同饲养阶段的猪感染后临床症状不同: 仔猪表现出中枢神经系统紊乱, 致死率高达

100%; 育肥猪伴有呼吸道症状, 死亡率低; 妊娠母猪常发生流产, 产死胎、木乃伊胎. 此外, 任何年龄的猪在耐过PRV的急性感染后均能在体内形成潜伏感染, 即该病毒可以在猪体内终生潜伏, 并且不表现任何临床症状, 但当机体受到外界刺激产生应激后, 处于潜伏状态的病毒能够被激活, 导致复发性感染并向外散毒, 这种潜伏-激活循环机制给疫病的防控带来了巨大挑战^[2,3]. 世界动物卫生组织(World Organization for Animal Health, WOAH)将伪狂犬病列为B类动物疫病, 中国将其列为三类动物疫病.

伪狂犬病的起源可追溯到20世纪初, 在1902年, 匈牙利学者Aujeszky就该病进行了报道^[4], 因此该病又被称为奥耶兹基氏病(Aujeszky's disease, AD), 该病在

引用格式: 郭镇洋, 田志军, 彭金美. 中国猪伪狂犬病的流行及防控. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 1780–1793

Guo Z Y, Tian Z J, Peng J M. Epidemic prevention and control of porcine pseudorabies in China (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 1780–1793, doi: 10.1360/SSV-2023-0191

被Aujeszky报道以前, 由于其临床症状同狂犬病相似, 而被误认为是狂犬病, 也正是两者有着类似的症状, 因此后来以“伪狂犬病”命名. 1910年, 德国学者Schmiedhoffer^[5]通过滤菌后获得可传代的致病因子而证实了该病的病原体为病毒. 1931年, 美国学者Shope^[6]首次从牛体内分离到该病病毒, 将病毒接种给猪后引起了猪的瘫痪麻痹, 因而发现了猪在传播该病上具有重要作用. 1933年Traub^[7]首次成功地以细胞培养的方式来繁殖该病毒. 自该病被Aujeszky报道以来, 其在欧洲的很多地方, 尤其是欧洲的中东部开始呈地方性的流行. 在20世纪60年代末之前, 美国的PR被认为是一种散发性疾病, 但从70年代以来其发病率一直在稳步上升, 美国农业部在1974年记录了125例, 1975年255例, 1976年714例, 1977年1256例^[8]. 此外, 日本在1981年也报道了PR, 直至1988年共发现有59个阳性猪场^[9]. 从全世界来看, 70年代以来, PR的流行呈现上升趋势, 成为世界性的动物重要传染病. 据不完全统计, 至少有44个国家和地区都报道发生过本病, 其危害仅次于猪瘟和口蹄疫, 全世界因该病所造成的经济损失每年高达几十亿美元^[10,11].

1961年, 匈牙利兽医Adorján Bartha通过低温连续传代发现了一种比野毒株毒性小的突变体(Bartha K61株), 该突变株的致病性因编码某些毒力或免疫逃逸因子的基因(包含gE和Us9基因的全部缺失, gI和Us2基因的部分缺失)改变甚至完全缺失而减弱, 这是有史以来开发的第一批PRV减毒疫苗, 它至今仍是各种PR根除计划的重要疫苗^[12]. 通过接种基因缺失疫苗(如Bartha K61和BUK株等), 配合对相应缺失基因(gE)编码蛋白的抗体检测, 欧美一些国家已经完成了对PRV的净化^[13~15].

我国于1979年从匈牙利引进了Bartha K61疫苗株, 总体上来说, 由于Bartha K61株疫苗的广泛使用, 伪狂犬病在我国得到了有效控制. 但2011年以来, PRV变异株在我国暴发并持续流行, 时刻威胁着养殖业的发展. 本文主要对2011年以来PRV在国内的流行情况以及我国在猪伪狂犬病防控技术方面的研究进展进行综述.

1 PRV变异株的分离、鉴定及流行情况

1.1 PRV变异株分离、鉴定

2011年下半年以来, 我国许多免疫过PRV活疫苗

(Bartha K61株)的规模化猪场出现了疑似PR的疫情, 主要表现为母猪流产、产弱仔、死胎, 大量新生仔猪出现神经症状和死亡. 彭金美等人^[16]从河南、黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古等省的14个猪场采集了153份临床样品, 进行了PRV强毒的检测及分离鉴定, 结果表明, 所检测的14个猪场均存在PRV野毒感染. 进一步研究发现, 新流行的PRV在抗原性上发生了变化, 致病力增强, 在遗传进化上也出现了新的特征. 2012年至今, 我国多家科研机构一直对PR疫情进行监测, 发现免疫猪场PRV流行持续存在, 序列分析和动物试验结果均证实PRV发生变异^[17~19].

2013年中国农业科学院哈尔滨兽医研究所率先在国内、国际杂志上发表文章表明PRV发生变异, 引起了国内外广泛关注^[16,20]. 美国农业部动植物卫生检验局(U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, USDA APHIS)和英国农业部动植物卫生署(Animal and Plant Health Agency, APHA)经中国农业部允许分别于2015和2016年引进了分离的PRV HeN1株, 美国农业部研究也证实现有Bartha K61株疫苗免疫猪对PRV HeN1株的攻击仅能提供部分保护^[21].

(1) PRV变异株抗原性的变异及毒力的增强. 彭金美等人^[16]于2012年首次分离到一株流行毒株PRV HeN1株, 他们将PRV HeN1分离株接种小鼠后, 小鼠出现了瘙痒、死亡等伪狂犬病症状, 而且对小鼠的LD₅₀ (10^{2.37} TCID₅₀)显著低于经典强毒PRV SC株(10^{3.83} TCID₅₀), 说明PRV HeN1株对小鼠的毒力较PRV SC株增强; 此外, 中和试验的结果显示, Bartha K61活疫苗免疫猪仅能诱导对HeN1株低水平的中和抗体, 而HeN1株能够诱导较高水平的中和抗体, 并具有更强的交叉中和能力. 为了进一步地比较Bartha K61株疫苗对中国经典毒株PRV SC株与新流行毒株PRV HeN1株的免疫保护效力, 安同庆等人^[20]以绵羊为动物模型进行攻毒保护试验, 结果发现, 接种Bartha K61株活疫苗的绵羊可免受PRV SC株的致死性攻击, 证明该疫苗免疫原性依然存在且符合质量标准. 然而, 接种Bartha K61株活疫苗的绵羊在PRV HeN1株的攻击下仅有50%的存活率, 这表明该疫苗不能提供针对新流行毒株的完全保护. 据此推测, 新流行毒株与传统毒株相比发生了抗原性的变化, 所以Bartha K61株活疫苗对其的保护相对减弱. 随后, Yu等人^[17]利用新分离

NVDC-PRV-SD株对免疫传统疫苗21天后的猪进行攻毒试验, 结果同样发现, 免疫猪未获得完全有效的抗感染保护, 并表现出与田间观察到的典型症状相似的明显临床症状, 因而推测新分离的PRV毒株的毒力发生了变化, 且这种毒力可能导致受感染猪的死亡。罗玉子等人^[22]采用绵羊攻毒保护试验模型发现, 经典Bartha K61疫苗不能完全保护绵羊抵抗新分离毒株PRV TJ株的攻击, 且与经典毒株PRV SC相比, 新分离毒株PRV TJ株对小鼠和猪具有更强的致病性, 这表明PRV TJ株的毒力较经典的PRV SC株发生了一定的增强。此外, 童武等人^[23]对2012年分离到的PRV-JS-2012株开展了的有关仔猪致病性的研究显示, 仔猪在接种PRV-JS-2012株4天后开始出现死亡, 病死率达100%。

总之, 对于新流行的PRV变异株, 抗原性发生了变异, 致病力增强, 而且面对PRV变异株的攻击, 现有疫苗无法对免疫猪和羊提供完全的保护。

(2) PRV变异株遗传进化新特征。叶超等人^[24]将获得的PRV HeN1株和JS株的全基因组序列与4株PRV全基因组序列和729个部分基因序列进行了比较, 结果显示中国分离的PRV毒株与欧美的PRV毒株相比, 序列差异显著。通过系统进化分析, 首次将PRV分为2个不同的类群, 中国分离的毒株属于基因型II, 国外分离株为基因型I (图1)^[24]。HeN1株全基因组测序以及对PRV感染相关基因(*gB*, *gC*, *gD*, *gH*)和毒力相关基因(*TK*, *PK*, *RR1*, *RR2*, *gE*, *gI*)比较分析结果显示, 国内分离株之间的序列同源性很高(96.2%~100%), 而与国外分离株的同源性较低(92.9%~99.7%); 国内分离株与国外分离株在感染和毒力相关编码基因上存在氨基酸突变、插入和缺失特征; 遗传演化分析表明, 国内外分离株间具有显著的遗传差异, 处于两个独立的遗传演化分支。此外, 国内分离株相对于国外分离株在gC蛋白中存在7个氨基酸的连续插入(⁶³AAASTPA⁶⁹), 该插入特征可以作为鉴别PRV国内外病毒株的分子特征^[25]。在基因II型PRV中, 又形成了两个明显的分支, 即2011年以前分离到的经典毒株(如Ea, Fa株)以及2011年以后的PRV变异株(HeN1, HLJ8株等), 新流行的毒株在亲缘关系上与基因I型毒株, 以及中国早期经典毒株均相距较远^[26]。He等人^[18]在进化动力学和结构生物学的基础上对PRV进行了全面分析并对PRV的系统发育和适应性进化进行了总结, 也同样得出PRV可分为2个主要分支的结论。他们的研究还发现, 进化枝2.2(PRV变异

株)是目前世界上最流行的基因型, 且最常参与跨物种传播事件(包括人类)。

将2011~2014年分离鉴定的PRV毒株与GenBank中登录的来源于全国10多个省份的32个PRV株和17个经典PRV株的gE核苷酸序列进行比对分析后, 赵鸿远等人^[27]发现, 这3年分离的PRV与之前分离的变异株PRV HeN1株的同源性为97.1%~99.5%, 而与经典株PRV SC株的同源性为96.6%~99.1%^[24]。以gE蛋白氨基酸序列建立的进化树分析结果显示, 2011~2014年分离的PRV形成一个相对独立于经典株的新分支, 而且变异株均在gE蛋白的第48位和第496位各存在1个天冬氨酸的插入。此外, Bo等人^[19]的研究同样发现这些特异性的氨基酸突变特征。随后郭镇洋等人^[28]比对了国内外经典株以及2011~2021年NCBI公布的gE蛋白氨基酸序列, 进一步明确了PRV不同基因亚型的分子特征, 即基因II型PRV变异株: gE蛋白aa496“D⁺”或aa496“D⁻”+aa448“I”; 基因II型PRV经典株: gE蛋白aa496“D⁻”+aa448“V/A”, 解决了以往PRV经典株与变异株区分模糊的问题。

新流行的PRV变异株在进化上已经逐渐形成了新的分支, 距基因I型PRV以及国内早期经典PRV的亲缘关系较远, 且PRV变异株在分子上出现了新的特征, 这也从进化的角度上解释了Bartha K61株无法保护免疫动物免受变异株攻击的原因。

1.2 PRV变异株的流行

我国首例伪狂犬病例报告可追溯至1947年的家猫感染病例, 随后猪、牛、羊、貂、狐等都有相关病例的报道^[29]。在20世纪60年代之前, PRV对动物的损害较小, 20世纪60年代以后由于毒株的毒力不断增强, PRV引起的临床症状不断增强, 不同生长阶段的猪均易感染。自20世纪70年代开始, PRV在我国的流行范围甚广, 已经遍及23个省、市、自治区, 尤其是伴随着集约化养殖的兴起, 有逐渐扩大和蔓延的趋势, 但没有大规模的暴发, 呈散发流行^[9]。20世纪80年代, 随着我国养猪业的不断发展, 所报道的PR病例也不断增多。1987年, 袁庆志等人^[30]从发病猪体分离到一株与Bartha K61弱毒株的病毒粒子形态、大小和结构一致的毒株, 命名为PRV SC株(双城株), 这是我国首次分离到的猪源性PRV。PRV SC株也成为Bartha K61株疫苗免疫效果评价的效检用毒株。Bartha K61株疫苗免疫

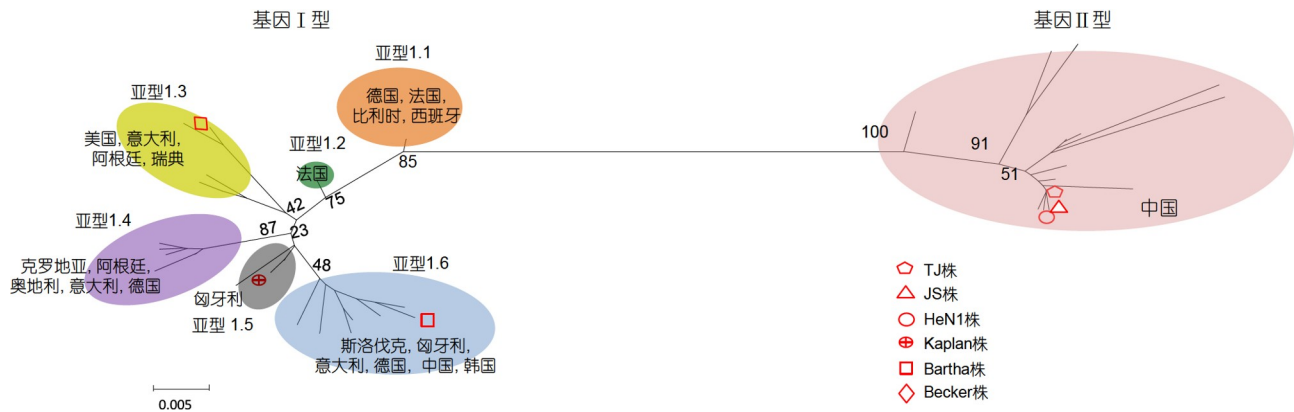


图 1 根据世界各地分离毒株gC基因部分序列, 在核苷酸水平上构建的系统发育树. 阴影区域的大小表示图中所示毒株的数量(引自文献[24](开放获取))

Figure 1 According to the partial sequence of gC gene of strains isolated from all over the world, the phylogenetic tree was constructed at nucleotide level. The size of the shaded area indicates the number of strains represented (reproduced from ref. [24] (Open Access))

过的仔猪和绵羊, 均能抵抗PRV SC株的攻击. 后来, 随着Bartha K61株疫苗在我国的广泛使用, 猪伪狂犬病得到了有效控制.

2011年底, PRV变异株开始在我国暴发, 在彭金美等人^[16]报道了PRV新流行毒株抗原性发生变异后引起了国内外的广泛关注, 这其中有44项相关研究分离到了新流行的PRV变异株, 同时也进行了致病性或遗传进化等分析(表1)^[23,31~73]. 这44项研究横跨2011~2022年, 涵盖了17个省/市, 表明PRV变异株的流行速度之快, 流行范围之广, 且很快取代了我国早期流行的经典毒株. 直至今日, 变异株依然为我国PRV流行的主流毒株.

此外, Sun等人^[74]对收集的2012~2017年中国27个省份疑似PRV感染猪场的样本进行了PRV的核酸检测. 在检测的16256份样本中, 约1345份样本为PRV gE阳性, 平均阳性率为8.27%. 2012~2017年PRV的阳性率分别为11.92%(153/1284)、12.19%(225/1846)、6.70%(169/2523)、11.10%(269/2424)、5.57%(147/2640)和6.90%(382/5539). 在区域分布上, 2012~2017年华东和华中地区PRV检测阳性率均高于10.00%, 而其他地区的阳性率为7.00%~10.00%. Tan等人^[75]从中英文数据库中检索了2011~2020年涵盖中国29个省份的108项代表性的猪群PRV血清流行病学研究, 总计256326份血清样本, 其中PRV gE抗体阳性样本76553份, 猪PRV感染率平均为29.87%. 此外, Tan等人^[75]还总结了我国不同地区猪群PRV野毒感染的血清学流行情况, 有9个

省/区PRV gE抗体阳性率超过30%(31.03%, 9/29), 华北、华东、中南地区的血清阳性率高于东北、西北、西南地区.

从2011年开始有关PRV的流行病学调查中, 无论是血清学检测还是抗原检测, 变异株的流行在全国大部分地区均有报道. 尽管近几年养猪企业生物安全防护措施在不断增强和升级, 我国自主研发的一系列疫苗也正在投入使用, 但PRV的流行却依然在持续, 表明PRV对我国养猪业的威胁仍然存在. 这也暗示制备针对新流行PRV变异株疫苗的步伐仍需加快, 同时相应的鉴别诊断手段也需要加强.

2 PRV的防控技术

PRV作为一种威胁养殖业的重大传染病, 在世界范围内的养猪场流行了一百多年. 接种疫苗是预防疾病和最大限度地减少PR造成的经济损失的最有效方法之一^[76]. 20世纪六七十年代通过细胞传代致弱获得的猪伪狂犬病活疫苗Bartha K61株和BUK株, 均为包括gE基因缺失的基因缺失疫苗, 不仅具有良好的安全性和免疫效力, 而且通过检测gE抗体可以区分疫苗免疫与野毒感染, 为伪狂犬病以及其他疾病的防控与净化提供了宝贵的可借鉴的经验. 此后, 伪狂犬病疫苗无论是灭活疫苗、弱毒活疫苗还是基因工程疫苗等的研制, 基本均为基因缺失疫苗, 遵循了可区别感染动物和接种动物的原则(differentiate infected from

表 1 44项相关研究中PRV变异株的分离情况

Table 1 Isolation of PRV variants in 44 related studies

年份	省/市	分离株名称	单位	参考文献
2011~2013	福建	FJ01株等(共11株)	龙岩学院	魏春华等人 ^[31]
2012	江苏	JS-2012株	中国农业科学院上海兽医研究所	童武等人 ^[23]
2012	福建	FZ-2012株	福建农林大学	陈秋勇等人 ^[32]
2013	江苏	TAIZ130417株	江苏农牧科技职业学院	郭广富等人 ^[33]
2013	黑龙江	DQ株	东北农业大学	刘洪斌等人 ^[34]
2013	黑龙江	HLJ8株	中国农业科学院 哈尔滨兽医研究所	姜成刚等人 ^[35]
2013	黑龙江	HLJ-2013株	中国农业科学院哈尔滨兽医研究所	朱冰等人 ^[36]
2013	河南	QXX株等(共4株)	河南农业大学	余秋颖等人 ^[37]
2013	广东	PRV-GD2013株	山东农业大学	李文慧等人 ^[38]
2013	浙江	PRV-ZJ株	南京天邦生物科技有限公司	尹秀凤等人 ^[39]
2013~2014	广西	GX-WM株等(共2株)	广西大学	刘芳等人 ^[40]
2013~2014	福建	FJLY01株等(共14株)	龙岩学院	范克伟等人 ^[41]
2014	福建	Fujian-LY株	龙岩学院	范克伟等人 ^[42]
2014	河南	ZY-2014株	中牧实业股份有限公司	潘文等人 ^[43]
2014	广东	GD株株	广东永顺生物制药股份有限公司	邹伟斌等人 ^[44]
2015	陕西	SX01株等(共4株)	广州市华南农大生物药品有限公司	方琳等人 ^[45]
2015	福建	PRV FJ-2015株	福建省农业科学院	陈秋勇等人 ^[46]
2015	山东	Qihe547株	山东农业大学	刘存等人 ^[47]
2015	四川	PRV-SC-1株等(共4株)	四川农业大学	赵军等人 ^[48]
2015	青海	未命名	青海省湟源县畜牧兽医站	谈国仓 ^[49]
2015	河北	HB-11株	上海创宏生物科技有限公司等	马晶晶等人 ^[50]
2015	江西	Jiangxi-FZ株	龙岩学院	范克伟等人 ^[51]
2015~2017	山西	SXQX株等(共3株)	山西省农业科学院畜牧兽医研究所	孟帆等人 ^[52]
2015~2018	四川	SCHS株等(共6株)	畜科生物工程有限公司	骆辉等人 ^[53]
2016	四川	BZ株	南充职业技术学院	李彩虹等人 ^[54]
2016	安徽	AH02LA株	江苏省农业科学院兽医研究所	乔永峰等人 ^[55]
2016	安徽	AH1601株等(共13株)	安徽农业大学	李春芬等人 ^[56]
2017	辽宁	LNP-1株	辽宁省动物疫病预防控制中心	杨洺扬等人 ^[57]
2017	山东	SDTA1等(共9株)	山东农业大学	古金元等人 ^[58]
2017	山东	SDPD-17株	云南农业大学	郑勤琴等人 ^[59]
2017	广东	GD1406株	华南农业大学	侯文凤等人 ^[60]
2017	河北	HBXTPRV株	河北农业大学	崔欢等人 ^[61]
2017	陕西	HX14株	咸阳职业技术学院	朱小甫等人 ^[62]
2017	河南	未命名	河南省新大牧业有限公司	张建远等人 ^[63]
2017~2019	广西	GXNN3055株等(共9株)	广西大学	党佳佳等人 ^[64]
2018	江苏	TAIZ130417株	江苏农牧职业学院	Guo等人 ^[65]
2018	上海	SH1311株	上海市动物疫病预防控制中心	齐新永等人 ^[66]
2018	贵州	Guizhou-T1株	贵州大学	胡玲玲等人 ^[67]
2018	山西	SX-2018株	福建农林大学	薛晓暖等人 ^[68]
2018	山东	LYA株等(共4株)	山东农业大学	曹龙龙等人 ^[69]
2020	福建	FJFZ株	佛山科学技术学院	万曾培等人 ^[70]
2021	福建	FJSW株	兆丰华生物科技(福州)有限公司	傅星源等人 ^[71]
2022	福建	FJMH1907b株	福建省农业科学院畜牧兽医研究所	吴学敏等人 ^[72]
2022	山西	未命名	上海市农业科学院畜牧兽医研究所	林鹭等人 ^[73]

vaccinated animals, DIVA), 有利于今后对伪狂犬病的净化。

2.1 PRV经典株的防控

(1) 国外引进的疫苗. 1979年中国农业科学院哈尔滨兽医研究所从匈牙利引进了猪伪狂犬病活疫苗(Bartha K61株)种毒, 并对生产工艺进行了改进, 最终试制成功了伪狂犬病冻干苗. 试验证明, 使用的种毒符合毒力标准, 试制的冻干苗, 经实验室和区域试验, 对不同品种的生后1~30日龄仔猪、架子猪、育肥猪和妊娠母猪及不同年龄的奶牛、黄牛、水牛和绵羊都安全, 且免疫效力确实. 对正在发病的疫点, 用该疫苗对猪或牛进行紧急接种, 疫情能迅速平息. 绵羊接种后第6天即可产生坚强的免疫力, 免疫持续至419天仍能全数保护, 第499天免疫率尚在70%上. 免疫的妊娠母猪所生的仔猪, 初乳免疫力至生后三周尚有85.7%保护^[77-79]. 该疫苗的试制成功, 填补了我国空白, 达到了国际同类产品的水平, 一经推广应用, 深受用者欢迎, 在实际应用中收到了显著的经济效益. 该成果于1986年获农业部科技进步二等奖. 30多年来, 猪伪狂犬病活疫苗(Bartha K61株)广泛应用于规模化猪场, 有效地控制了PRV在中国的流行^[80].

(2) 中国自主研发的疫苗. 20世纪80年代初期, 基因工程技术兴起, 该技术也在伪狂犬病的疫苗研制中得到了应用, 即利用基因工程技术在PRV基因组中插入或缺失一段序列, 致使PRV的某些基因不能表达, 从而使PRV的毒力减弱, 同时又保持其较强的免疫原性. 世界上第一个获得批准使用的基因工程缺失疫苗就是伪狂犬病TK缺失疫苗株BUK-d13, 它是以PRV BUK株为原始材料, 通过基因工程方法缺失TK基因序列的148 bp而获得^[81].

进入20世纪90年代后, 我国科研工作者也利用基因工程技术开发了基于国内PRV分离株为亲本株的疫苗, 如SA125株、HB-98株、HB-2000株等, 这些疫苗在我国伪狂犬病的防控中均发挥了一定的作用.

SA215株是郭万柱等人以牛源性伪狂犬病毒Fa株为亲本株, 通过同源重组技术缺失了病毒的TK, gE和gI基因, 同时插入了LacZ标签, 获得的三基因缺失病毒, 该疫苗株在2003年获得新兽药证书, 是中国第1个针对伪狂犬病的转基因疫苗^[82-84].

HB-98株是陈焕春等人^[85]以分离的PRV Ea株为亲

本株, 通过同源重组技术, 逐步敲除TK(部分编码区)、gG基因, 筛选获得的TK⁻/gG⁻/LacZ⁺突变株. “猪伪狂犬活疫苗HB-98株”是第2个获得国家新兽药证书的猪伪狂犬病基因工程活疫苗. 由于HB-98株没有缺失gE基因, 因此无法利用现有的gE抗体检测试剂盒进行鉴别诊断, 陈焕春等人又在制备HB-98株过程中的中间毒株即TK基因缺失株的基础上, 进一步通过同源重组缺失gE和gI基因构建了HB-2000株(TK⁻/gE⁻/gI⁻/LacZ⁺). 试验表明, 该基因缺失疫苗以10^{5.0} TCID₅₀和10^{6.0} TCID₅₀的剂量接种妊娠母猪、新生仔猪及育肥猪均安全, 而且可保护妊娠母猪抵抗10^{7.1} TCID₅₀强毒的攻击^[86]. 2016年, TK, gI, gE三基因缺失的猪伪狂犬病耐热保护剂活疫苗(HB2000株)获得了国家三类新兽药证书.

除了利用基因工程方法制备PRV基因缺失疫苗以外, 赖志等人^[87]于2011年在中国分离到一株天然包含gE/gI缺失的弱毒株PRV C株, 在此基础上发展为减毒活疫苗, 并于2017年获得新兽药证书.

2.2 PRV变异株的防控

2011年, PRV变异株在中国暴发, 面对新流行的PRV变异株, 市场上应用最为广泛的Bartha K61株对免疫猪只并不能提供完全的保护效力. 此前我国研发的疫苗均是基于早期PRV经典毒株为亲本株研制的疫苗, 尚无直接证据表明这些疫苗对PRV变异株的保护作用优于Bartha K61疫苗株^[80,88,89]. 因此, 我国多家单位开始研制针对PRV变异株的疫苗.

2012年至今, 已有4家单位以PRV变异株为亲本毒株研制的灭活疫苗获得了新兽药证书. 分别是普莱柯生物工程股份有限公司等研制的猪伪狂犬病灭活疫苗(HN1201-ΔgE)(2019年)^[90]、华中农业大学等研制的猪伪狂犬病gE基因缺失灭活疫苗(HNX-12株)(2021年)^[91]、中国农业科学院上海兽医研究所等研制的猪伪狂犬病灭活疫苗(JS-2012-ΔgE/gI株)(2022年)^[92]以及江苏南农高科技股份有限公司等研制的猪伪狂犬病毒gE/gI基因缺失灭活疫苗(ZJ011G株)(2023年)^[93]. 这些疫苗毒株都是通过基因工程方法获得, 且都缺失了可用于鉴别检测的gE基因.

相较于灭活苗, 弱毒活疫苗的研制稍稍滞后, 但都取得了较大的进展.

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所借鉴伪狂犬病

活疫苗Bartha K61株传代致弱的经验, 将2012年分离的PRV变异株HeN1株在Vero细胞上连续低温传代(温度从37℃逐步降低到28℃)培养, 在F135代通过噬斑克隆和gE基因PCR鉴定筛选到一个gE阴性的克隆, 后经详细鉴定确定其在Us区存在包括gI, gE, US9, US2和部分反向重复序列在内的大片段缺失(缺失长度为4936 bp)。但将其以 $10^{6.0}$ TCID₅₀的剂量肌注射绵羊, 仍然能使绵羊全部(4/4)发病和死亡。这表明PRV变异株的毒力增强, 仅缺失Us区的gE等基因不足以降低其致病性。将该病毒进一步在LM-TK⁻细胞上通过BrdU进行药物筛选, 获得了一株TK基因部分缺失的病毒(命名为PRV TP株^[94])。将TP株以 $10^{7.0}$ TCID₅₀的剂量肌注射绵羊, 绵羊仍能全部(4/4)健活, 这一结果表明TK基因才是毒力致弱的关键基因。21日龄仔猪分别接种TP株和Bartha K61株后用PRV HeN1株攻击, TP株免疫组猪完全保护(5/5), 而Bartha K61株免疫组仅有部分保护(4/5), 攻毒后两周检测gE抗体发现Bartha K61组存活的4头猪gE抗体均阳转, 而TP株免疫组仅2头(2/5)猪gE抗体阳转。上述结果表明, PRV TP株是一株具有良好的安全性和免疫原性, 且易于鉴别诊断的优良的候选疫苗株。该毒株目前已经通过了新兽药注册的复核检验。

中国农业科学院上海兽医研究所将2012年分离的变异株(JS-2012)在Vero细胞上高温(40℃)持续传代培养致弱^[95]。在传代到90代后, 病毒毒力明显降低, 接种2周龄仔猪仅出现轻微发热、食欲减退和精神萎靡, 而不会导致死亡; 传代到120代时接种2周龄仔猪已无致病性; 从120代传代毒中通过噬斑克隆筛选到一株与亲本毒JS-2012在Vero细胞上病变和噬斑形态明显不同, 但繁殖滴度更高的毒株(JS-2012-F120)。通过聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)鉴定和测序分析, 该毒株在Us区缺失2307 bp, 包含部分gE基因、Us9基因和部分Us2基因。将该毒株(JS-2012-F120)免疫2周龄仔猪后用经典强毒PRV SC株和变异株JS-2012攻击均能提供完全的保护, 且gE抗体均未阳转。该毒株目前也处于新兽药注册的复核检验阶段。

2.3 PRV的诊断技术

与常规病毒检测方法类似, 针对PRV的检测方法主要涉及到病原学检测如病毒的分离鉴定; 血清学检

测如酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA); 分子生物学检测如PCR技术、荧光定量PCR。病毒分离和PCR检测均适用于病毒感染早期即急性发病期, 对于耐过的康复动物或免疫后感染野毒但未表现明显临床症状的动物会发生漏检。病毒分离是传统的疾病诊断方法, 对检测实验室条件要求高且花费时间长, 而PCR作为现代分子生物学技术, 具有操作简单、特异性强、灵敏度高等优点, 能够在感染早期准确快速的检测病毒核酸。检测抗体的ELISA方法, 尤其是伪狂犬病在普遍使用gE基因缺失疫苗的情况下, 检测gE抗体更能反映猪群PRV的实际感染状况。因此, 核酸检测与抗体检测, 两者同等重要, 缺一不可。

PCR技术发展到现在已经比较成熟, 尤其是对于PRV, 基因组序列相对保守, 通过设计特异性的引物、对反应条件适当优化就可以满足常规应用的需求。对PRV的核酸检测, 主要是检测样品中的gB和gE基因, 通过对gB基因的检测, 来判定样品中是否含有PRV; 通过对gE基因的检测, 来判定样品是否感染野生型PRV^[96], 同时, 对扩增的gE基因进行测序分析也可以了解PRV的变异情况。

ELISA是以抗原抗体的特异性结合为基础建立起的一套特异性检测抗原/抗体的技术。对PRV的抗体检测中, 主要涉及gB和gE抗体, gB抗体水平能够反映疫苗的免疫效果, 而gE抗体水平则可以确定是否感染野毒。目前, 在国内广泛使用的仍是进口试剂盒, 包括IDEXX的gB和gE阻断ELISA抗体检测试剂盒, 百测的gB(间接)、gE(阻断)抗体检测试剂盒, 以及韩国金诺的gB和gE ELISA抗体检测试剂盒。我国在gB抗体检测试剂盒的开发中也取得一些成果, 如普泰生物的猪伪狂犬病毒gB竞争ELISA抗体检测试剂盒(批准文号: 163698860)、科前生物的猪伪狂犬病毒gB蛋白阻断ELISA抗体检测试剂盒(批准文号: 170048928)等均已获新兽药证书并在我国市场流通。此外, 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所联合哈尔滨国生生物已成功开发了猪伪狂犬病gB阻断ELISA抗体检测试剂盒, 其敏感性比IDEXX试剂盒敏感性高2~8倍, 在检测492份猪场收集的临床血清样品中, 与IDEXX的符合率为98.78%, 目前该试剂盒正在注册申报阶段^[97]。总之, 在gB抗体检测上, 我国基本可以摆脱进口产品的束缚。但在gE抗体检测试剂盒的开发上, 仍稍有欠缺。一方

面, 由于gE蛋白在PRV病毒中丰富度可能相对较低^[98]; 另一方面, 无论是原核还是真核表达蛋白都不容易维持蛋白的天然结构^[99-101], 且gE蛋白糖基化修饰较多, 因此免疫小鼠制备单克隆抗体难度较大. 目前, 我国已经获得新兽药证书的gE抗体检测试剂盒有科前生物的猪伪狂犬病毒gE蛋白ELISA抗体检测试剂盒(间接法)(批准文号: 170048112)和普泰生物的猪伪狂犬病毒gE蛋白阻断ELISA抗体检测试剂盒(批准文号: 163698926).

猪伪狂犬病的防控与净化是一个综合性的措施, 疫苗免疫和鉴别诊断是其中的重要一环. 我国针对新流行毒株的gE基因缺失疫苗以及gB和gE抗体检测试剂盒的研制均取得了突破性进展, 这将有助于我国对猪伪狂犬病进行有效的防控, 并最终达到净化的目的.

3 总结

伪狂犬病发现至今, 已有100多年的历史. 近几十年来, 随着不断出现的各种控制措施和全国性消除计划的实施, 很多国家已经完成了伪狂犬病在家猪中的净化, 如欧洲的奥地利、德国、捷克、丹麦、芬兰、匈牙利、卢森堡、荷兰、瑞典、瑞士以及美洲的加拿大和美国等. 我国由于养殖规模较大且目前经济发展水平的限制不足以进行大规模的扑杀和淘汰, 因此加强疫苗免疫和流行病学监测显得尤为重要. 2011年以来, 我国有29个省份出现了PRV变异株, 呈普遍流行, 造成了重大的经济损失. 通过遗传进化树分析, 新流行的毒株在亲缘关系上与基因 I 型毒株(国外), 以及中国早期经典毒株均相距较远. 加快研发针对流行毒株疫苗的速度, 尽早投入使用, 将有助于猪伪狂犬病的控制.

参考文献

- 1 Nauwynck H J, Pensaert M B. Cell-free and cell-associated viremia in pigs after oronasal infection with Aujeszky's disease virus. *Vet Microbiol*, 1995, 43: 307-314
- 2 Gutekunst D E, Pirtle E C, Miller L D, et al. Isolation of pseudorabies virus from trigeminal ganglia of a latently infected sow. *Am J Vet Res*, 1980, 41: 1315-1316
- 3 Priola S A, Gustafson D P, Wagner E K, et al. A major portion of the latent pseudorabies virus genome is transcribed in trigeminal ganglia of pigs. *J Virol*, 1990, 64: 4755-4760
- 4 Mettenleiter T C. Aujeszky's disease (pseudorabies) virus: the virus and molecular pathogenesis—State of the art, June 1999. *Vet Res*, 2000, 31: 99-115
- 5 Schmiedhoffer J. Beiträge zur Pathologie der infektiösen Bulbär paralyse (Aujeszky'sche Krankheit). *Z Infekt. Krankh Parasit Hyg Haustier*, 1910, 8: 383-405
- 6 Shope R E. AN experimental study of "mad itch" with especial reference to its relationship to pseudorabies. *J Exp Med*, 1931, 54: 233-248
- 7 Traub E. Cultivation of pseudorabies virus. *J Exp Med*, 1933, 58: 663-681
- 8 Lee J Y, Wilson M R. A review of pseudorabies (Aujeszky's disease) in pigs. *Can Vet J*, 1979, 20: 65-69
- 9 Chen P J. Research on epidemiology and control of pseudorabies in swine farms of Guangdong (in Chinese). Dissertation for Doctoral Degree. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2005 [陈平洁. 广东省猪伪狂犬病流行病学调查和防控措施. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学, 2005]
- 10 Kong L D. Current situation of pseudorabies and application of pseudorabies vaccine in China (in Chinese). *Swine Prod*, 2000, 1: 38-39 [孔令达. 我国伪狂犬病现状及伪狂犬病疫苗的应用. 养猪, 2000, 1: 38-39]
- 11 Yan Q G, Guo W Z. Research progress of pseudorabies (in Chinese). *Sichuan Anim Vet Sci*, 1995, 1: 60-62 [颜其贵, 郭万柱. 伪狂犬病的研究进展. 四川畜牧兽医, 1995, 1: 60-62]
- 12 Skoda R, Brauner I, Sadecky E, et al. Immunization against Aujeszky's disease with live vaccine. I. Attenuation of virus and some properties of attenuated strains. *Acta Virol*, 1964, 8: 1-9
- 13 McFerran J B, Dow C. Studies on immunisation of pigs with the Bartha strain of Aujeszky's disease virus. *Res Vet Sci*, 1975, 19: 17-22
- 14 Kit S, Sheppard M, Ichimura H, et al. Second-generation pseudorabies virus vaccine with deletions in thymidine kinase and glycoprotein genes.

- Am J Vet Res, 1987, 48: 780–793
- 15 Lian Z, Liu P, Zhu Z, et al. Isolation and characterization of a novel recombinant classical pseudorabies virus in the context of the variant strains pandemic in China. *Viruses*, 2023, 15: 1966
 - 16 Peng J M, An T Q, Zhao H Y, et al. Identification and antigen analysis variation of new epidemiology of pseudorabies virus from swine (in Chinese). *Chin J Prev Vet*, 2013, 35: 1–4 [彭金美, 安同庆, 赵鸿远, 等. 猪伪狂犬病病毒新流行株的分离鉴定及抗原差异性分析. *中国预防兽医学报*, 2013, 35: 1–4]
 - 17 Yu X, Zhou Z, Hu D, et al. Pathogenic pseudorabies virus, China, 2012. *Emerg Infect Dis*, 2014, 20: 102–104
 - 18 He W, Auclert L Z, Zhai X, et al. Interspecies transmission, genetic diversity, and evolutionary dynamics of pseudorabies virus. *J Infect Dis*, 2019, 219: 1705–1715
 - 19 Bo Z, Miao Y, Xi R, et al. Emergence of a novel pathogenic recombinant virus from Bartha vaccine and variant pseudorabies virus in China. *Transbound Emerg Dis*, 2021, 68: 1454–1464
 - 20 An T Q, Peng J M, Tian Z J, et al. Pseudorabies virus variant in Bartha-K61-vaccinated pigs, China, 2012. *Emerg Infect Dis*, 2013, 19: 1749–1755
 - 21 Papageorgiou K V, Michailidou M, Grivas I, et al. Bartha-K61 vaccine protects nursery pigs against challenge with novel european and asian strains of suid herpesvirus 1. *Vet Res*, 2022, 53: 47
 - 22 Luo Y, Li N, Cong X, et al. Pathogenicity and genomic characterization of a pseudorabies virus variant isolated from Bartha-K61-vaccinated swine population in China. *Vet Microbiol*, 2014, 174: 107–115
 - 23 Tong W, Zheng H, Shan T L, et al. Pathogenicity of variant strain JS-2012 of pseudorabies virus in piglets (in Chinese). *Chin J Anim Infect Dis*, 2014, 22: 10–14 [童武, 郑浩, 单同领, 等. 伪狂犬病毒变异株(JS-2012)对仔猪的致病性研究. *中国动物传染病学报*, 2014, 22: 10–14]
 - 24 Ye C, Zhang Q Z, Tian Z J, et al. Genomic characterization of emergent pseudorabies virus in China reveals marked sequence divergence: Evidence for the existence of two major genotypes. *Virology*, 2015, 483: 32–43
 - 25 Ye C, Zhao K, Guo J C, et al. Genomic sequencing and genetic diversity analysis of a pseudorabies virus based on main infection or virulence genes (in Chinese). *Chin J Prev Vet*, 2015, 37: 581–584 [叶超, 赵款, 郭金潮, 等. 猪伪狂犬病病毒HeN1株全基因组测序及感染和毒力相关基因的变异特征分析. *中国预防兽医学报*, 2015, 37: 581–584]
 - 26 Ye C, Guo J C, Gao J C, et al. Genomic analyses reveal that partial sequence of an earlier pseudorabies virus in China is originated from a Bartha-vaccine-like strain. *Virology*, 2016, 491: 56–63
 - 27 Zhao H Y, Peng J M, An T Q, et al. Identification of glycoprotein E characteristic in pseudorabies virus variants from swine (in Chinese). *Chin J Prev Vet*, 2014, 36: 506–509 [赵鸿远, 彭金美, 安同庆, 等. 猪伪狂犬病病毒变异株的分离鉴定及其gE基因的分子特征. *中国预防兽医学报*, 2014, 36: 506–509]
 - 28 Guo Z Y, Zhao J, Fu J, et al. Molecular epidemiological investigation and analysis of porcine pseudorabies virus in China from 2016 to 2021 (in Chinese). *Chin J Prev Vet*, 2023, 45: 122–128+155 [郭镇洋, 赵静, 付军, 等. 2016–2021年我国猪伪狂犬病病毒的分子流行病学调查与分析. *中国预防兽医学报*, 2023, 45: 122–128+155]
 - 29 Tong G Z, Chen H C. The epidemic situation of pseudorabies and the prevention and control measures to be taken in China (in Chinese). *Chin J Vet Sci*, 1999, 19: 4–5 [童光志, 陈焕春. 伪狂犬病流行现状及我国应采取的防控措施. *中国兽医学报*, 1999, 19: 4–5]
 - 30 Yuan Q Z, Li Z R, Nan X, et al. Isolation and identification of porcine pseudorabies virus (in Chinese). *Chin J Prev Vet*, 1987, 3: 10–11 [袁庆志, 礼卓然, 南锡, 等. 猪伪狂犬病病毒的分离与鉴定. *中国畜禽传染病*, 1987, 3: 10–11]
 - 31 Wei C H, Dai A L, Li X H, et al. Genetic variation analysis of the gD and gE gene of new epidemiology of Porcine Pseudorabies virus in Fujian (in Chinese). *Chin J Vet Med*, 2016, 52: 15–18 [魏春华, 戴爱玲, 李晓华, 等. 福建省猪伪狂犬病病毒新流行株gD、gE基因遗传变异分析. *中国兽医杂志*, 2016, 52: 15–18]
 - 32 Chen Q Y, Wu X M, Zhou L J, et al. Isolation and identification of swine pseudorabies virus strain FZ-2012 and phylogenetic analysis of gE gene (in Chinese). *Anim Husb Vet Med*, 2015, 47: 17–20 [陈秋勇, 吴学敏, 周伦江, 等. 猪伪狂犬病病毒FZ-2012株的分离鉴定及其gE基因的遗传演化分析. *畜牧与兽医*, 2015, 47: 17–20]
 - 33 Guo G F, Cao J P, Zhu A P, et al. Isolation and Identification of Taizhou strain of Porcine pseudorabies virus (in Chinese). *Jiangsu Agric Sci*,

- 2015, 43: 200–202 [郭广富, 曹军平, 朱爱萍, 等. 猪伪狂犬病毒泰州株的分离鉴定. 江苏农业科学, 2015, 43: 200–202]
- 34 Liu H B, Zhang Z M, Ding G J, et al. Identification and biological characteristics of Porcine Pseudorabies Virus Isolated (DQ Strain) (in Chinese). *Chin J Vet Drug*, 2013, 47: 14–17 [刘洪斌, 张智明, 丁国杰, 等. 猪伪狂犬病毒DQ株的分离鉴定与生物学特性研究. 中国兽药杂志, 2013, 47: 14–17]
- 35 Jiang C G, Zhao K, Ye C, et al. Isolation and identification of swine pseudorabies virus HLJ8 strain (in Chinese). *Chin Vet Sci*, 2015, 45: 20–24 [姜成刚, 赵款, 叶超, 等. 猪伪狂犬病毒HLJ8株的分离与鉴定. 中国兽医科学, 2015, 45: 20–24]
- 36 Zhu B, Wang J F. Preliminary analysis of the characteristics of the gB protein of pseudorabies virus strain HLJ-2013 (in Chinese). *Chin J Prev Vet*, 2021, 43: 357–362 [朱冰, 王靖飞. 伪狂犬病病毒HLJ-2013株gB基因及蛋白特性的初步分析. 中国预防兽医学报, 2021, 43: 357–362]
- 37 Yu Q Y, Chang H T, Chen W D, et al. Isolation and identification of pseudorabies virus prevailing from 2012 to 2013 and sequence analysis of *gE*, *TK*, *gD* gene (in Chinese). *Chin J Vet Sci*, 2014, 34: 1573–1578+1583 [余秋颖, 常洪涛, 陈文定, 等. 2012~2013年新流行猪伪狂犬病病毒的分离鉴定及其*gE*、*TK*、*gD*基因序列分析. 中国兽医学报, 2014, 34: 1573–1578+1583]
- 38 Li W H, Song Z Y, Dong Y W, et al. Isolation, identification of a pseudorabies virus in pig farm in Guangdong (in Chinese). *Chin J Prev Vet*, 2017, 39: 319–321 [李文慧, 宋遵阳, 董雅文, 等. 广东某猪场伪狂犬病病毒GD2013株的分离鉴定. 中国预防兽医学报, 2017, 39: 319–321]
- 39 Yin X F, Ding M J, Zhang H T, et al. Isolation and identification of porcine pseudorabies virus ZJ strain and research of its immunogenicity (in Chinese). *China Anim Husb Vet Med*, 2014, 41: 258–261 [尹秀凤, 丁美娟, 张海涛, 等. 猪伪狂犬病病毒的分离鉴定及免疫原性初步研究. 中国畜牧兽医, 2014, 41: 258–261]
- 40 Liu F, Xue H, Qin S Y, et al. Isolation, identification and *gE* gene sequence analysis of Porcine pseudorabies virus from Guangxi (in Chinese). *Swine Production*, 2014: 105–108 [刘芳, 薛辉, 秦树英, 等. 广西猪伪狂犬病病毒的分离鉴定及*gE*基因序列分析. 养猪, 2014: 105–108]
- 41 Fan K W, Yang X Y, Yang S S, et al. Genetic variation of *gE* gene of porcine pseudorabies virus variants isolated in Western Fujian Province (in Chinese). *Chin J Vet Sci*, 2015, 35: 1903–1910 [范克伟, 杨小燕, 杨守深, 等. 闽西地区猪伪狂犬病病毒变异株*gE*基因新变异序列鉴定. 中国兽医学报, 2015, 35: 1903–1910]
- 42 Fan K W, Dai A L, Wu D F, et al. Pathogenicity of variant strain in Fujian-LY of pseudorabies virus in immune piglets (in Chinese). *Chin J Vet Sci*, 2015, 35: 1727–1734 [范克伟, 戴爱玲, 吴德峰, 等. 猪伪狂犬病毒变异株(Fujian-LY)对免疫仔猪的致病性研究. 中国兽医学报, 2015, 35: 1727–1734]
- 43 Pan W, Ma L, Zhang H N, et al. Isolation and identification of variant strain ZY-2014 of pseudorabies virus (in Chinese). *Chin J Vet Drug*, 2016, 50: 1–6 [潘文, 马良, 张贺楠, 等. 猪伪狂犬病病毒ZY-2014株的分离与鉴定. 中国兽药杂志, 2016, 50: 1–6]
- 44 Zou W B, Lv L N, Lai Y H, et al. Biological characteristics and phylogenetic analysis of *gB* gene of porcine pseudorabies virus GD Strain (in Chinese). *Mod J Anim Husb Vet Med*, 2019: 7–12 [邹伟斌, 吕丽珊, 赖月辉, 等. 猪伪狂犬病病毒GD株的生物学特性和*gB*基因进化分析. 现代畜牧兽医, 2019: 7–12]
- 45 Fang L, Zhu H, Li Y, et al. Isolation and identification of porcine pseudorabies in some areas of Shanxi province and analysis of genetic variation of *gE* gene (in Chinese). *Prog Vet Med*, 2016, 37: 24–30 [方琳, 朱辉, 李焯, 等. 陕西省部分地区猪伪狂犬病病毒分离鉴定及其*gE*基因遗传变异分析. 动物医学进展, 2016, 37: 24–30]
- 46 Chen Q Y, Wu X M, Che Y L, et al. Genetic analysis of major immunogen genes of the variant pseudorabies virus strain FJ-2015 (in Chinese). *Chin J Prev Vet Med*, 2018, 40: 70–73 [陈秋勇, 吴学敏, 车勇良, 等. 伪狂犬病病毒FJ-2015株主要免疫原基因的遗传进化分析. 中国预防兽医学报, 2018, 40: 70–73]
- 47 Liu C. Genomic sequencing and sequence analysis of a field pseudorabies virus Qihe547 strain (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Taian: Shandong agricultural university, 2016 [刘存. 伪狂犬病病毒Qihe547分离株全基因组测序分析. 硕士学位论文. 泰安: 山东农业大学, 2016]
- 48 Zhao J, Yin Y, Mao X Y, et al. Isolation and identification of pseudorabies virus epidemic strains in Sichuan Province and analysis of *gE* and *gD* gene sequences (in Chinese). *Chin Vet Sci*, 2016, 46: 827–833 [赵军, 殷玥, 毛汐语, 等. 伪狂犬病病毒四川流行株的分离鉴定及*gE*和*gD*基因的序列分析. 中国兽医科学, 2016, 46: 827–833]
- 49 Tan G C. Isolation and identification of an epidemic strain of porcine pseudorabies (in Chinese). *Chin Anim Husb Vet Abstr*, 2015, 31: 197+179

- [谈国仓. 一株猪伪狂犬流行株的分离与鉴定. 中国畜牧兽医文摘, 2015, 31: 197+179]
- 50 Ma J J, Wu B Q, Gao J F, et al. Isolation and identification of porcine pseudorabies virus (PRV) strain HB-11 and analysis of *gC* gene (in Chinese). Chin J Vet Med, 2018, 54: 28–32 [马晶晶, 吴碧清, 高俊峰, 等. 猪伪狂犬病病毒HB-11株的分离鉴定及*gC*基因的分析. 中国兽医杂志, 2018, 54: 28–32]
- 51 Fan K W, Dai A L, Wu D F, et al. Identification and molecular characteristics of important virulence genes of porcine pseudorabies virus strain Jiangxi-FZ (in Chinese). Chin J Zoo, 2015, 31: 1103–1110 [范克伟, 戴爱玲, 吴德峰, 等. 猪伪狂犬病毒Jiangxi-FZ株的分离鉴定及其重要毒力基因分子特征. 中国人兽共患学报, 2015, 31: 1103–1110]
- 52 Meng F, Fan Z H, Wu X, et al. Epidemic characteristic and analysis of genetic variation diversity of *gE* gene of pseudorabies virus isolated from Shanxi area (in Chinese). Chin J Vet Sci, 2020, 40: 873–881 [孟帆, 樊振华, 吴忻, 等. 猪伪狂犬病病毒山西分离株*gE*全基因的遗传变异多样性及流行特点分析. 中国兽医学报, 2020, 40: 873–881]
- 53 Luo H, Wang X T, Liao G, et al. Isolation、identification and virulence test of pseudorabies virus epidemic strains (in Chinese). Sichuan Anim Vet Sci, 2020, 47: 34–37+40 [骆辉, 王雪涛, 廖果, 等. 猪伪狂犬病病毒流行株的分离鉴定及其毒力试验. 四川畜牧兽医, 2020, 47: 34–37+40]
- 54 Li C H, He W, He K J, et al. Isolation and Identification of a novel Porcine pseudorabies virus (in Chinese). Heilongjiang Anim Sci Vet Med, 2017: 134–136 [李彩虹, 何文, 何柯瑾. 新型猪伪狂犬病毒的分离与鉴定. 黑龙江畜牧兽医, 2017: 134–136]
- 55 Qiao Y F, Gu Y Q, Liu C, et al. Isolation and identification of one porcine pseudorabies virus strain AH02LA and its pathogenicity in piglets (in Chinese). Anim Husb Vet Med, 2016, 48: 36–41 [乔永峰, 顾一奇, 柳畅, 等. 猪伪狂犬病病毒AH02LA株的分离鉴定及其对仔猪致病性研究. 畜牧与兽医, 2016, 48: 36–41]
- 56 Li C F, He Z Z, Yang L B, et al. Pathogenicity of porcine pseudorabies virus Anhui strains in mice (in Chinese). Swine Prod, 2021: 121–126 [李春芬, 何赞赞, 杨龙斌, 等. 猪伪狂犬病病毒安徽分离株对小鼠的致病性研究. 养猪, 2021: 121–126]
- 57 Yang M Y, Yang B Y, Shen G Z, et al. Pathogenic detection and genetic analysis of porcine pseudorabies virus in Liaoning province (in Chinese). Mod J Anim Husb Vet Med, 2018: 51–56 [杨铭扬, 杨本勇, 申贯男, 等. 辽宁地区猪伪狂犬病毒病原学检测与遗传演化分析. 现代畜牧兽医, 2018: 51–56]
- 58 Gu J Y, Ma Z C, Peng T, et al. Isolation, identification and phylogenetic analysis of *gE* gene of pseudorabies virus in parts of Shandong province (in Chinese). Chin J Vet Sci, 2019, 39: 21–24 [古金元, 马梓承, 彭涛, 等. 山东省部分地区猪伪狂犬病病毒分离鉴定及其*gE*基因遗传变异分析. 中国兽医学报, 2019, 39: 21–24]
- 59 Zheng Q Q, Wu F X, Liu S, et al. Isolation and identification of pseudorabies virus from goat in Shandong Province (in Chinese). China Anim Health Inspect, 2019, 36: 79–85 [郑勤琴, 吴发兴, 刘爽, 等. 山东省一例山羊伪狂犬病的病原分离鉴定. 中国动物检疫, 2019, 36: 79–85]
- 60 Hou W F, Lin H, Wang F Q, et al. Antigenic analysis of pseudorabies virus variant strain GD1406 (in Chinese). Chin J Prev Vet, 2018, 40: 621–625 [侯文凤, 林辉, 王凤求, 等. 伪狂犬病病毒GD1406变异株的抗原性分析. 中国预防兽医学报, 2018, 40: 621–625]
- 61 Cui H, Zhang C, Dong S S, et al. Isolation and identification of pseudorabies virus in Hebei Province and analysis of the *gE* sequence of the virus (in Chinese). Anim Husb Vet Med, 2020, 52: 90–97 [崔欢, 张诚, 董世山, 等. 猪伪狂犬病病毒河北变异株的分离鉴定及其*gE*基因序列分析. 畜牧与兽医, 2020, 52: 90–97]
- 62 Zhu X P, Wu X J. Isolation and identification of pseudorabies virus strain HX14 (in Chinese). J Shanghai Jiaotong Univ (Agric Sci), 2017, 35: 85–89 [朱小甫, 吴旭锦. 猪伪狂犬病毒HX14株的分离与鉴定. 上海交通大学学报(农业科学版), 2017, 35: 85–89]
- 63 Zhang J Y, Fan L Z, Xie Y F, et al. Isolation and identification of epidemic strains of porcine pseudorabies (in Chinese). Heilongjiang Anim Sci Vet Med, 2017: 96–98 [张建远, 范丽哲, 谢有福, 等. 猪伪狂犬流行株的分离与鉴定. 黑龙江畜牧兽医, 2017: 96–98]
- 64 Dang J J, Lu L F, Zhao S, et al. Isolation and identification of pseudorabies virus in Guangxi from 2017 to 2019 and analysis of *gC* and *gG* variations (in Chinese). Chin J Anim Infect Dis, 2021, 29: 56–63 [党佳佳, 卢丽飞, 赵硕, 等. 2017–2019年广西猪伪狂犬病病毒的分离鉴定及其*gC*、*gG*毒力基因分析. 中国动物传染病学报, 2021, 29: 56–63]
- 65 Guo G F, Zhu A P, Cao J P, et al. Isolation and identification of a porcine pseudorabies virus strain in Taizhou city. Agric Biotechnol, 2018, 7: 133–135
- 66 Qi Y X, Ju H B, Ge F F, et al. Isolation and identification of sheep PRV and sequence analysis of its *gD* gene (in Chinese). Chin J Anim Infect Dis, 2018, 26: 11–17 [齐新永, 鞠厚斌, 葛菲菲, 等. 绵羊伪狂犬病病毒的分离鉴定及其*gD*基因序列分析. 中国动物传染病学报, 2018, 26: 11–17]

- 11–17]
- 67 Hu L L, Tang D Y, Zeng Z Y, et al. Isolation and identification of pseudorabies virus Guizhou-T1 strain and its genetic variation (in Chinese). *Chin J Prev Vet*, 2018, 40: 397–400 [胡玲玲, 汤德元, 曾智勇, 等. 伪狂犬病病毒Guizhou-T1株的分离鉴定及其遗传变异研究. 中国预防兽医学报, 2018, 40: 397–400]
 - 68 Xue X N, Jiang X L, Chen J L, et al. Isolation and identification of porcine pseudorabies virus variant strain of SX-2018 and its pathogenicity to mouse (in Chinese). *Chin Vet Sci*, 2021, 51: 857–864 [薛晓暖, 姜雪梨, 陈吉龙, 等. 猪伪狂犬病病毒SX-2018变异株的分离鉴定及其致病性研究. 中国兽医科学, 2021, 51: 857–864]
 - 69 Cao L L, Liu Z H, Liu F F, et al. Comprehensive diagnosis of pseudorabies in pigs and analysis of genetic variation of *gE* and *TK* genes in isolated strains (in Chinese). *Chin J Cell Biol*, 2020, 42: 38–45 [曹龙龙, 刘照虎, 刘方峰, 等. 猪伪狂犬病综合诊断及分离毒株 gE 和 TK 基因遗传变异分析. 中国细胞生物学学报, 2020, 42: 38–45]
 - 70 Wang Z P, Pang X F, Wang Z F, et al. Isolation and identification of a variant pseudorabies virus and sequence analysis of *gE* and *TK* genes (in Chinese). *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2020, 40: 695–701 [万曾培, 庞旋飞, 王征帆, 等. 1株变异伪狂犬病病毒的分离鉴定及 gE 和 TK 基因序列分析. 中国兽医学报, 2020, 40: 695–701]
 - 71 Fu X Y. Isolation and identification of FJSW of pseudorabies virus and sequence analysis of *gG* gene (in Chinese). *Fujian J Anim Husb Vet Med*, 2021, 43: 17–19 [傅星源. 伪狂犬病病毒FJSW的分离鉴定及 gG 基因序列分析. 福建畜牧兽医, 2021, 43: 17–19]
 - 72 Wu X M, Wang Y L, Chen R J, et al. Isolation of pseudorabies virus FJMH1907b strain and evolution analysis of *gD* gene (in Chinese). *Fujian J Anim Husb Vet Med*, 2022, 44: 11–15 [吴学敏, 汪翊灵, 陈如敬, 等. 伪狂犬病病毒FJMH1907b株的分离和 gD 基因的演化分析. 福建畜牧兽医, 2022, 44: 11–15]
 - 73 Lin Z, Zhao B J, He X Z, et al. Isolation and identification of a porcine pseudorabies virus and its pathogenicity to different animals (in Chinese). *Acta Agric Shanghai*, 2022, 38: 88–92 [林鹭, 赵本进, 何锡忠, 等. 一株猪伪狂犬病病毒的分离鉴定及其对不同动物的致病性. 上海农业学报, 2022, 38: 88–92]
 - 74 Sun Y, Liang W, Liu Q, et al. Epidemiological and genetic characteristics of swine pseudorabies virus in mainland China between 2012 and 2017. *PeerJ*, 2018, 6: e5785
 - 75 Tan L, Yao J, Yang Y, et al. Current status and challenge of pseudorabies virus infection in China. *Virol Sin*, 2021, 36: 588–607
 - 76 Freuling C M, Müller T F, Mettenleiter T C. Vaccines against pseudorabies virus (PrV). *Vet Microbiol*, 2017, 206: 3–9
 - 77 Yuan Q Z, Wu Y X, Li Y X, et al. Studies on the immunity of pseudorabies I. Study on attenuated pseudorabies vaccine (in Chinese). *Chin J Prev Vet*, 1983, 1: 1–6 [袁庆志, 吴裕祥, 李亚香, 等. 伪狂犬病免疫的研究 I. 伪狂犬病弱毒疫苗的研究. 家畜传染病, 1983, 1: 1–6]
 - 78 Yuan Q Z, Wu Y X, Li Y X, et al. Studies on the immunity of pseudorabies II. Study on attenuated pseudorabies vaccine (in Chinese). *Chinese Journal of Preventive Veterinary*, 1985, 3: 11–17 [袁庆志, 吴裕祥, 李亚香, 等. 伪狂犬病免疫的研究 II. 伪狂犬病弱毒冻干疫苗保存期和免疫期试验. 家畜传染病, 1985, 3: 11–17]
 - 79 Yuan Q Z, Wu Y X, Li Z R, et al. Studies on the immunity of pseudorabies III. Study on attenuated pseudorabies vaccine (in Chinese). *Chin J Prev Vet*, 1986, 1: 13–15 [袁庆志, 吴裕祥, 礼卓然, 等. 伪狂犬病免疫的研究 III. 伪狂犬病弱毒冻干疫苗对猪和牛区域性安全试验. 家畜传染病, 1986, 1: 13–15]
 - 80 Sun Y, Luo Y, Wang C H, et al. Control of swine pseudorabies in China: Opportunities and limitations. *Vet Microbiol*, 2016, 183: 119–124
 - 81 Kit S, Kit M, Pirtle E C. Attenuated properties of thymidine kinase-negative deletion mutant of pseudorabies virus. *Am J Vet Res*, 1985, 46: 1359–1367
 - 82 Mettenleiter T C, Klupp B G, Weiland F, et al. Characterization of a quadruple glycoprotein-deleted pseudorabies virus mutant for use as a biologically safe live virus vaccine. *J Gen Virol*, 1994, 75: 1723–1733
 - 83 Chen L, Guo W Z, Xu Z W, et al. The biological characteristics of a gene-deleted pseudorabies virus vaccine strain (SA215) (in Chinese). *Acta Vet Zoo Sin*, 2005, 36: 278–282 [陈陆, 郭万柱, 徐志文, 等. 伪狂犬病基因缺失疫苗株(SA215)某些生物学特性研究. 畜牧兽医学报, 2005, 36: 278–282]
 - 84 Guo W Z, Xu Z W, Wang X Y, et al. Construction of new generation pseudorabies virus gene deleted vaccine and the study of biologic characteristics (in Chinese). *J Sichuan Agric Univ*, 2000, 18: 1–3+10 [郭万柱, 徐志文, 王小玉, 等. 新型伪狂犬病病毒基因缺失株的构建及

- 生物学特性研究(初报). 四川农业大学学报, 2000, 18: 1-3+10]
- 85 Chen H C, Zhou F C, Fang L R, et al. Construction of TK-/gG-/LacZ+ mutant of pseudorabies virus strain Ea (in Chinese). *Chin J Virol*, 2001, 32: 69-74 [陈焕春, 周复春, 方六荣, 等. 伪狂犬病毒鄂A株TK~-/gG~-/LacZ~+突变株的构建. 病毒学报, 2001, 32: 69-74]
- 86 Liu Z F, Chen H C, Wu B, et al. Safety and efficacy of PRV Ea TK-/gE-/gI- gene-deleted vaccine (in Chinese). *Acta Vet Zoo Sin*, 2004, 35: 70-73 [刘正飞, 陈焕春, 吴斌, 等. 伪狂犬病毒鄂A株TK~-/gE~-/gI~-基因缺失疫苗的安全性和保护力研究. 畜牧兽医学报, 2004, 35: 70-73]
- 87 Gao J F, Lai Z, Shu Y H, et al. Isolation and identification of porcine pseudorabies virus C strain (in Chinese). *Acta Agric Shanghai*, 2015, 31: 32-36 [高俊锋, 赖志, 舒银辉, 等. 猪伪狂犬病毒C株的分离鉴定. 上海农业学报, 2015, 31: 32-36]
- 88 Bo Z, Li X. A review of pseudorabies virus variants: genomics, vaccination, transmission, and zoonotic potential. *Viruses*, 2022, 14: 1003
- 89 Tong W, Liu F, Zheng H, et al. Emergence of a Pseudorabies virus variant with increased virulence to piglets. *Vet Microbiol*, 2015, 181: 236-240
- 90 Wang T, Xiao Y, Yang Q, et al. Construction of a gE-deleted pseudorabies virus and its efficacy to the new-emerging variant PRV challenge in the form of killed vaccine. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 1-10
- 91 Zhang M H, Ku X G, Ling Y Z, et al. The horizontal transmission of porcine pseudorabies virus HNX strain in vaccinated pigs (in Chinese). *Chin J Prev Vet*, 2015, 37: 426-429 [张明辉, 库旭钢, 凌云志, 等. 猪伪狂犬病毒HNX株在免疫猪群中水平传播能力的研究. 中国预防兽医学报, 2015, 37: 426-429]
- 92 Tong W, Li G, Liang C, et al. A live, attenuated pseudorabies virus strain JS-2012 deleted for gE/gI protects against both classical and emerging strains. *Antivir Res*, 2016, 130: 110-117
- 93 Jiang C L, Ma Z C, Lv L, et al. Identification of immunogenicity of a porcine pseudorabies virus strain with deletion of TK/gE/gI genes in seed batch (in Chinese). *Chin Vet Sci*, 2022, 52: 861-866 [姜辰龙, 马梓承, 吕林, 等. 猪伪狂犬病毒ZJ01ΔgI/gE/TK株种子批的免疫原性鉴定. 中国兽医科学, 2022, 52: 861-866]
- 94 Tian Z J, Peng J M. A genetically attenuated strain of porcine pseudorabies virus and its application as a gene-deleted attenuated vaccine, generated through low-temperature cell passages and drug screening (in Chinese). *China ZL201610629865.3*, 2019 [田志军, 彭金美. 一株通过细胞低温传代和药物筛选致弱的猪伪狂犬病毒基因缺失弱毒疫苗株及其应用. 中国ZL201610629865.3, 2019]
- 95 Liang C, Tong W, Zheng H, et al. A high-temperature passaging attenuated Pseudorabies vaccine protects piglets completely against emerging PRV variant. *Res Vet Sci*, 2017, 112: 109-115
- 96 Ma X, Cui Y, Qiu Z, et al. A nanoparticle-assisted PCR assay to improve the sensitivity for rapid detection and differentiation of wild-type pseudorabies virus and gene-deleted vaccine strains. *J Virol Methods*, 2013, 193: 374-378
- 97 Zhao J. Establishment and preliminary application of blocking ELISA method for detection of anti-gB antibody against pseudorabies virus (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Harbin: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021 [赵静. 猪伪狂犬病毒gB抗体阻断ELISA检测方法的建立及初步应用. 硕士学位论文. 哈尔滨: 中国农业科学院, 2021]
- 98 Grunewald K, Desai P, Winkler D C, et al. Three-dimensional structure of herpes simplex virus from cryo-electron tomography. *Science*, 2003, 302: 1396-1398
- 99 Nosaki S, Hoshikawa K, Ezura H, et al. Transient protein expression systems in plants and their applications. *Plant Biotechnol*, 2021, 38: 297-304
- 100 Popa C M, Tabuchi M, Valls M. Modification of bacterial effector proteins inside eukaryotic host cells. *Front Cell Infect Microbiol*, 2016, 6: 73
- 101 Guo Z, Zhang S, Xu H, et al. Preparation and identification of a monoclonal antibody against the pseudorabies virus gE glycoprotein through a novel strategy. *Vet Sci*, 2023, 10: 133

Epidemic prevention and control of porcine pseudorabies in China

GUO ZhenYang, TIAN ZhiJun & PENG JinMei

State Key Laboratory for Animal Disease Control and Prevention, Harbin Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150069, China

Porcine pseudorabies poses a significant threat to the pig industry as a major infectious disease. In 1979, the Bartha-K61 live vaccine was introduced to China as an effective measure to control this disease. However, in 2011, pseudorabies outbreaks occurred in numerous immunized pig farms, indicating that the existing vaccine could not fully protect against the newly isolated virus strains after immunization. In response to this challenge, Chinese researchers have been diligently conducting epidemiological surveillance on PRV variants. To date, PRV mutants have been detected in 29 provinces across China. Sequence analysis has revealed that these newly prevalent strains are genetically distinct from the gene type I strain (found abroad) and the early Chinese classical strain. Notably, characteristic amino acid variations specific to the PRV variants have been identified. Consequently, efforts have been made to develop vaccines and diagnostic reagents that target these new epidemic strains. Several organizations have successfully developed inactivated vaccines and diagnostic kits for the PRV mutants, and obtained certifications of new veterinary drugs. Furthermore, significant progress has been achieved in the development of gene-deletion attenuated live vaccines. These advancements in research provide valuable theoretical and technical support for the prevention, control, and eradication of porcine pseudorabies.

porcine pseudorabies, variants, epidemic, diagnosis, vaccine

doi: [10.1360/SSV-2023-0191](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0191)